

УДК616-002.5-97:578.233.22

DOI: 10.14427/jipai.2015.1.59

## Характеристика корреляционных связей туберкулинсвязывающих мононуклеаров и противотуберкулиновых антител при туберкулезе легких

В.А. Серегина, А.М. Будрицкий

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

### Description of correlation between tuberculin adherent mononuclears and anti-tuberculin antibodies during pulmonary tuberculosis

V. Seregina, A. Budritsky

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

#### Аннотация

У пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких с положительной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой через два месяца интенсивной фазы лечения выявлена прямая умеренная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 и противотуберкулиновых антител. У пациентов с отрицательной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой в процессе лечения выявлена обратная сильная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 через 2 месяца лечения и противотуберкулиновых антител через один месяц. На фоне комплексной терапии в сочетании с меглумина акридоацетатом корреляционная связь туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 и противотуберкулиновых антител усиливается. Выявлена сильная корреляционная связь между количеством туберкулинсвязывающих моноцитов и туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 на протяжении всей фазы интенсивной терапии.

#### Ключевые слова

Туберкулез, лечение, туберкулинсвязывающие моноциты, противотуберкулиновые антитела, корреляция.

#### Summary

In patients diagnosed with pulmonary tuberculosis for the first time that show positive clinico-radiological and laboratory dynamics after two months of intensive treatment, a moderate direct correlation was discovered between the number of tuberculin adherent monocytes, tuberculin adherent monocytes with higher expression of CD 14 receptors, and anti-tuberculin antibodies. In patients with negative clinico-radiological and laboratory dynamics during treatment, a strong inverse correlation between the number of severe tuberculin adherent monocytes, tuberculin adherent monocytes with higher expression of CD 14 receptors after 2 months of treatment, and antituberculin antibodies in one month. During complex treatment in combination with meglumine acridonacetate, the correlation between the number of tuberculin adherent monocytes, tuberculin adherent monocytes with higher expression of CD 14 receptors, and antituberculin antibodies increases. A strong correlation between the number of tuberculin adherent monocytes and tuberculin adherent monocytes with higher expression of CD 14 receptors was discovered throughout the entire intensive treatment phase.

#### Key words

Tuberculosis, treatment, tuberculin adherent monocytes, antituberculin antibodies, correlation.

## Введение

Эпидемическая ситуация по туберкулезу в мире остается весьма напряженной несмотря на проводимую работу по борьбе с этим заболеванием, совершенствование методов его диагностики и лечения [1]. Разработка и внедрение в практику эффективных методов диагностики и критериев эффективности лечения туберкулеза - реальные пути прерывания цепи эпидемиологического инфекционного процесса и снижения смертности от этого заболевания [2]. В последние годы имеются успехи и в иммунологических исследованиях при туберкулезе, которые чаще не «напрямую» определяют микобактерии и их компоненты, а оценивают реакцию на них иммунной системы [3]. Важную роль в формировании адекватного иммунного ответа при туберкулезе играют антигенпрезентирующие клетки (АПК), представленные моноцитами, макрофагами и дендритными клетками с выраженной иммунорегуляторной активностью. Поэтому дисфункции АПК обсуждаются в качестве одного из существенных механизмов нарушения антигенспецифического ответа [4]. Существует большое количество исследований, в которых показано, что антигены *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) при инфицировании макрофагов и дендритных клеток способны изменять их функциональные свойства [5]. Поэтому изучение туберкулинсвязывающей способности моноцитов (которые впоследствии генерируются в макрофаги) и лимфоцитов представляет большой научный и практический интерес. Инфицирование туберкулезными микобактериями сопровождается выработкой иммунной системой организма человека большого количества специфических гетерогенных антител [6]. Факт превышения порогового уровня суммарных антител у пациентов с туберкулезом легких не свидетельствует об активном туберкулезе. Было бы интересно выявить корреляционные связи количества туберкулинсвязывающих мононуклеаров и противотуберкулиновых антител у пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких при поступлении и в процессе интенсивной фазы специфической полихимиотерапии с учетом клинко-рентгенологической и лабораторной динамики.

**Цель исследования.** Выявить корреляционные связи количества туберкулинсвязывающих лимфоцитов (ТСЛ), моноцитов (ТСМ) и противотуберкулиновых антител (ПТАТ) у пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких при поступлении и в процессе специфической по-

лихимиотерапии в сочетании с иммуностимулирующим лекарственным средством меглумином акридонатацетатом.

## Материалы и методы

Исследования проводили у 53 пациентов с впервые выявленным достоверно доказанным туберкулезом легких на основании обнаружения микобактерий туберкулеза в мокроте. Критериями включения в исследование явились: наличие впервые выявленных форм туберкулеза легких с бактериовыделением у пациентов мужского и женского пола, отсутствие ВИЧ инфицирования. Исследования количества ТСЛ, ТСМ проводили при поступлении, через один, два и три месяца с помощью метода проточной цитометрии на аппарате Beckman Coulter FC500, используя аргоновый лазер с длиной волны эмиссии 488 нм. Использовали свежую гепаринизированную венозную кровь пациентов. Добавляли реагент (моноклональные антитела 2-х компонентной тест-системы «Биоскан – М 1» лот): НИМ 14 – 45.50. CD 14 (R-PE), CD 45 (PE-Cy 5.5) и туберкулин, конъюгированный с FITC при помощи реагентов лота НИМФИТЦ.5x2 ОДО «НИКП РЕСАН» (Беларусь). Оценивали не менее 20000 клеток. Задействовали каналы и флуоресцентные метки: канал FL1 - флуоресцентная метка туберкулин FITC, канал FL2 - флуоресцентная метка CD14 R-PE. В протоколе устанавливали точечные распределения клеток по осям: FS/SS Ungated (FS/SS), выделяли зону лимфоцитов, моноцитов, а из зоны моноцитов выделяли туберкулин FITC/CD14 R-PE (FL1/FL2). Расчет количества туберкулинсвязывающих лимфоцитов, моноцитов крови проводили по формуле:

$A = B \times C / 100$ , где:

A – количество туберкулинсвязывающих лимфоцитов, моноцитов ( $10^9/л$ );

B - абсолютное количество лимфоцитов, моноцитов ( $10^9/л$ );

C – количество туберкулинсвязывающих лимфоцитов, моноцитов (%).

Исследование суммарных ПТАТ проводили с помощью набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к микобактериям туберкулеза D-2352 АТ-Туб-Бест фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск, РФ при поступлении, через один, два и три месяца лечения.

Пациенты с туберкулезом легких были разделены на группы:

- группа пациентов – 28 человек, у которых выявлена в процессе лечения положительная клинко-рентгенологическая и лабораторная

динамика и группа пациентов – 19 человек с отрицательной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой в процессе лечения;

- группа пациентов - 21 человек, которые получали стандартную противотуберкулезную терапию в сочетании с меглумина акридо-нацетатом и пациенты - 32 человека, которые получали противотуберкулезное лечение по стандартным схемам без меглумина акридо-нацетата.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «Статистика – 10.1» [7]. Использовали метод непараметрического анализа данных (критерий Вилкоксона, Спирмена). Полученные результаты записаны в виде: Me (25 %; 75 %).

### Результаты исследования и обсуждение

Проведен анализ динамики количества туберкулинсвязывающих лимфоцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов и противотуберкулиновых антител у пациентов с положительной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой (оценивалась на основании купирования интоксикационного синдрома, исчезновения легочных жалоб, наступления негативации мокроты, улучшения рентгенологической картины) в процессе специфической терапии и определена корреляционная связь данных показателей. Выявлено, что количество ТСМ в группе пациентов с положительной клинико-рентгенологической, лабораторной динамикой достоверно увеличилось к концу третьего месяца лечения по сравнению с первым ( $p=0,04$ ) и со вторым месяцами лечения ( $p=0,03$ ). Их количество при поступлении составило  $0,023 (0,006; 0,153) \times 10^9/\text{л}$ , через один месяц лечения -  $0,019 (0,006; 0,0128) \times 10^9/\text{л}$ , через два месяца -  $0,023 (0,005; 0,150) \times 10^9/\text{л}$ , через три месяца -  $0,056 (0,024; 0,184) \times 10^9/\text{л}$ . У этих пациентов выявлено так же достоверное увеличение количества ТСМ с большей экспрессией рецепторов CD14 через три месяца лечения ( $p=0,04$ ) и составило при поступлении  $0,0168 (0,0036; 0,1257) \times 10^9/\text{л}$ , через 1 месяц лечения -  $0,0143 (0,0042; 0,1012) \times 10^9/\text{л}$ , через 2 месяца лечения -  $0,0310 (0,0017; 0,1673) \times 10^9/\text{л}$ , через 3 месяца лечения -  $0,0504 (0,0196; 0,1538) \times 10^9/\text{л}$ . Количество ТСЛ в зависимости от клинико-рентгенологических, лабораторных результатов лечения у этих пациентов достоверно не менялось ( $p>0,05$ ) и при поступлении составило  $1,351 (1,062; 1,903) \times 10^9/\text{л}$ , через один месяц лечения -  $2,016 (1,6; 2,144) \times 10^9/\text{л}$ , через два месяца

лечения -  $1,317 (0,937; 1,966) \times 10^9/\text{л}$ , через три месяца лечения -  $1,423 (0,818; 2,271) \times 10^9/\text{л}$ . Уровень суммарных ПТАТ при положительной клинико-рентгенологической, лабораторной динамике достоверно в процессе лечения увеличился к концу лечения ( $p = 0,03$ ) и составил при поступлении  $0,868 (0,551; 1,537)$  ед. опт. плотности, через один месяц -  $0,895 (0,722; 1,724)$  ед. опт. плотности, через два месяца -  $0,972 (0,331; 1,785)$  ед. опт. плотности, через три -  $1,3 (0,658; 1,842)$  ед. опт. плотности. Проведен анализ корреляционной связи (по Спирмену) выше указанных показателей. Выявлена прямая умеренная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов ( $r = 0,52$ ), туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 ( $r = 0,51$ ) и противотуберкулиновых антител через два месяца лечения. Высокая положительная корреляционная связь выявлена между туберкулинсвязывающими моноцитами и туберкулинсвязывающими моноцитами с большей экспрессией CD 14 ( $r = 0,99$ ). Умеренно выраженная обратная корреляционная связь выявлена между количеством туберкулинсвязывающих лимфоцитов к концу третьего месяца терапии и уровнем суммарных противотуберкулиновых антител через один месяц лечения ( $r = - 0,63$ ). У этих же пациентов выявлена сильная положительная корреляционная связь между уровнем суммарных противотуберкулиновых антител через один месяц терапии и при поступлении ( $r = 0,62$ ), и через два ( $r = 0,75$ ), и три месяца лечения ( $r = 0,96$ ). В группе пациентов с отрицательной клинико-рентгенологической, лабораторной динамикой достоверных различий количества ТСМ в процессе лечения не выявлено ( $p>0,05$ ). Количество ТСМ в этой группе пациентов составило при поступлении  $0,07 (0,076; 0,294) \times 10^9/\text{л}$ , через один месяц лечения -  $0,076 (0,70; 0,317) \times 10^9/\text{л}$ , через два месяца -  $0,12 (0,261; 0,232) \times 10^9/\text{л}$ , через три месяца -  $0,11 (0,457; 0,306) \times 10^9/\text{л}$ . Количество ТСМ с большей экспрессией рецепторов CD14 у пациентов этой группы так же достоверно не менялось в процессе лечения ( $p>0,05$ ) и при поступлении составило  $0,0399 (0,0033; 0,0960) \times 10^9/\text{л}$ , через 1 месяц лечения -  $0,0264 (0,0057; 0,2798) \times 10^9/\text{л}$ , через 2 месяца -  $0,0920 (0,0088; 0,1324) \times 10^9/\text{л}$ , через 3 месяца -  $0,0852 (0,0114; 0,1552) \times 10^9/\text{л}$ . Не выявлено достоверных изменений и количества ТСЛ в процессе лечения ( $p>0,05$ ). Их количество при поступлении составило -  $1,471 (0,975; 2,149) \times 10^9/\text{л}$ , через один месяц лечения -  $1,288 (1,017; 1,961) \times 10^9/\text{л}$ , через два месяца лечения -  $1,503 (0,963; 1,871) \times 10^9/\text{л}$ , через три месяца

лечения – 1,529 (1,142; 2,089)  $\times 10^9$ /л. Уровень суммарных ПТАТ достоверно в процессе лечения увеличился к концу первого месяца ( $p = 0,03$ ) и составил при поступлении 0,857 (0,601; 1,746) ед. опт. плотности, через один месяц – 1,271 (0,961; 1,673) ед. опт. плотности, через два месяца – 1,407 (0,792; 1,768) ед. опт. плотности, через три – 1,607 (0,946; 1,817) ед. опт. плотности. Проведен анализ корреляционной связи (по Спирмену) исследуемых показателей. Выявлена обратная сильная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов ( $r = -0,83$ ), туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 ( $r = -0,75$ ) через 2 месяца лечения и противотуберкулиновых антител через один месяц лечения. У этих пациентов так же выявлена высокая положительная корреляционная связь туберкулинсвязывающих моноцитов и туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 ( $r = 0,86$ ).

Количество ТСМ у пациентов, получавших комплексное лечение туберкулеза легких меглума акридоацетатом достоверно выросло через два месяца терапии ( $p = 0,04$ ) и составило при поступлении 0,021 (0,006; 0,0074) $\times 10^9$ /л, через два месяца - 0,093 (0,084; 0,245) $\times 10^9$ /л. На фоне приема меглума акридоацетата достоверно увеличивалось и количество ТСМ с большей экспрессией рецепторов CD14 к концу второго ( $p = 0,03$ ) и третьего месяца лечения ( $p = 0,03$ ) и составило при поступлении 0,0133 (0,0032; 0,0547)  $\times 10^9$  /л, через 1 месяц лечения - 0,0089 (0,0049; 0,0256) $\times 10^9$ /л, через 2 месяца - 0,0862 (0,0189; 0,1963) $\times 10^9$ /л, через 3 месяца - 0,0504 (0,0053; 0,1389) $\times 10^9$ /л. У пациентов этой группы было выявлено достоверное снижение количества ТСЛ к концу второго месяца лечения по сравнению с первым месяцем ( $p = 0,03$ ) и составило при поступлении – 1,39 (1,1; 1,91)  $\times 10^9$ /л, через один месяц лечения – 1,36 (1,01; 1,96)  $\times 10^9$ /л, через два месяца лечения – 1,47 (0,96; 2,09)  $\times 10^9$ /л, через три месяца лечения – 1,32 (0,82; 1,86)  $\times 10^9$ /л. Уровни ПТАТ у пациентов, которые получали меглума акридоацетат, в процессе лечения достоверно не различались ( $p > 0,05$ ) и составили при поступлении – 1,362 (0,613; 1,673) ед. опт. плотности, через один месяц лечения – 1,057 (0,776; 1,744) ед. опт. плотности, через два месяца лечения – 1,442 (0,658; 1,844) ед. опт. плотности, через три месяца лечения – 1,3 (0,508; 1,842) ед. опт. плотности. У пациентов, которые получали комплексную специфическую противотуберкулезную терапию в интенсивную фазу с использованием меглума акридоацетата, выявлена прямая корреляцион-

ная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов через два месяца терапии и уровнем ПТАТ через один ( $r = 0,64$ ) и два месяца ( $r = 0,52$ ), а так же количества туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 при поступлении и уровнем ПТАТ через один ( $r = 0,45$ ), два месяца ( $r = 0,54$ ) и три месяца терапии ( $r = 0,61$ ).

У пациентов, которые не получали меглума акридоацетат, выявлено достоверное уменьшение количества ТСМ к концу третьего месяца лечения ( $p = 0,04$ ) и составило при поступлении 0,102 (0,005; 0,210) $\times 10^9$ /л, через три месяца - 0,095 (0,024; 0,306) $\times 10^9$ /л. Не выявлено в процессе лечения достоверных различий количества ТСМ с большей экспрессией CD14 у пациентов, которые не принимали меглума акридоацетат ( $p > 0,05$ ). Их количество при поступлении составило 0,0752(0,0049; 0,1773)  $\times 10^9$  /л, через 1 месяц лечения - 0,0264 (0,0050; 0,1818) $\times 10^9$ /л, через 2 месяца лечения - 0,0105 (0,0048; 0,1225) $\times 10^9$ /л, через 3 месяца лечения - 0,1041 (0,0179; 0,2513) $\times 10^9$ /л. У этих пациентов так же не выявлено достоверных изменений показателей ТСЛ в процессе лечения ( $p > 0,05$ ). Уровень ПТАТ достоверно увеличился через месяц лечения ( $p < 0,01$ ) и составил при поступлении 0,0807 (0,561; 1,347) ед. опт. плотности, через один месяц лечения – 1,005 (0,754; 1,414) ед. опт. плотности, через два месяца лечения – 0,853 (0,642; 1,545) ед. опт. плотности, через три месяца лечения – 1,601(0,912; 1,962) ед. опт. плотности. У пациентов, которые не получали в составе комплексной специфической противотуберкулезной терапии в интенсивную фазу меглума акридоацетат, корреляционной связи количества туберкулинсвязывающих моноцитов, в том числе и туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 и ПТАТ не выявлено. У этих пациентов выявлена обратная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих лимфоцитов и уровнем ПТАТ при поступлении ( $r = -0,48$ ).

## Выводы

1. У пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких с положительной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой в процессе интенсивной фазы терапии выявлена прямая умеренная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 и противотуберкулиновых антител через два месяца лечения.



2. У пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких с отрицательной клинико-рентгенологической и лабораторной динамикой в процессе терапии интенсивной фазы выявлена обратная сильная корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 через 2 месяца лечения и противотуберкулиновых антител через один месяц лечения.
3. У пациентов, которые получали комплексную терапию в сочетании с меглу-мина акридонатом корреляционная связь туберкулинсвязывающих моноцитов, туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD 14 и противотуберкулиновых антител усиливается. Выявлена прямая корреляционная связь количества туберкулинсвязывающих моноцитов через два месяца терапии и уровнем ПТАТ через один и два месяца, а так же количества туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией CD 14 при поступлении и уровнем ПТАТ через один, два месяца и три месяца терапии.
4. Выявлена сильная корреляционная связь между количеством туберкулинсвязывающих моноцитов и туберкулинсвязывающих моноцитов с большей экспрессией рецепторов CD14.

## Литература

1. Гуревич Л.Г., Скрягина Е.М., Залуцкая О.М. Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза легких на различных уровнях оказания медицинской помощи. Туберкулез и болезни легких. 2014; 1: 16-19.
2. Payam Nahid, Peter S. Kim, Carlton A. Evans et al. Clinical Research and Development of Tuberculosis Diagnostics: Moving From Silos to Synergy. J Infect Dis. 2012; 205; 2: 159-168.
3. Pinto L. M., Grenier J., Schumacher S. G. Immunodiagnosis of tuberculosis: State of the Art. Med. Princ. Pract. 2012; 21: 4-13.
4. Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. [и соавт.]. Иммунопатология туберкулеза лёгких. Томск: Изд-во ТГУ; 2007.
5. Распай Ж.М., Никонов С.Д., Жданов О.А., Черных Е.Р. Характеристика фенотипических и функциональных свойств антигенпрезентирующих клеток у больных туберкулезом легких. Рос. иммунол. журн. 2008; 2: 258-259.
6. Яковлева Л. Ф., Лысенко А. П., Агеева Т. Н. Иммунный спектр сыворотки крови при различных формах туберкулеза и его влияние на результативность серологической диагностики. Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2004; 2: 129-132.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistic. М.: Медиасфера, 2002, 312 с.

## Сведения об авторах:

Серегина Валентина Александровна, старший преподаватель кафедры фтизиопульмонологии УО «ВГМУ», 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, E-mail: valentina-seregina@mail.ru

Будрицкий Александр Михайлович, к.м.н., доцент, зав. кафедрой фтизиопульмонологии УО «ВГМУ», 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, E-mail: alexandrбудрицкий@rambler.ru

Поступила 19.03.2015 г.